

**ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ УРОВНЯМИ АДИПОКИНОВ,
ИХ СООТНОШЕНИЕМ В ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ
И РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬЮ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ
У ЖЕНЩИН С НОРМАЛЬНОЙ И ПОВЫШЕННОЙ МАССОЙ ТЕЛА**

© 2020 г. Ю. Р. Рыжов^{1,2}, А. О. Шпаков², Н. Н. Ткаченко¹, М. Р. Махмадалиева¹,
И. Ю. Коган¹, А. М. Гзгзян¹

¹Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродукции им. Д.О. Отта,
Санкт-Петербург, Россия

²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: julian.ryzhov@gmail.com

Поступила в редакцию 06.03.2020 г.

После доработки 12.04.2020 г.

Принята к публикации 20.04.2020 г.

Вырабатываемые жировой тканью адипокины вовлечены в регуляцию стероидогенеза и фолликулогенеза и влияют на имплантацию эмбриона и рецептивность эндометрия. Вследствие этого уровни адипокинов и их соотношение в фолликулярной жидкости могут быть использованы для оценки эффективности экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Цель исследования состояла в изучении влияния уровней лептина, адипонектина и грелина и их соотношения в фолликулярной жидкости женщин с нормальной и повышенной массой тела на эффективность и исходы ЭКО. Исследовали женщин с нормальной массой тела, которые забеременели (БН, $n = 7$) или не забеременели (нБН, $n = 14$) в результате ЭКО, и с повышенной массой тела (ИМТ >25 кг/м²), забеременевших (БП, $n = 5$) и не забеременевших (нБП, $n = 19$) после проведения ЭКО. В группе БН уровень лептина в фолликулярной жидкости был выше, чем в группе нБН ($p < 0.05$). В группах БП и нБП он не различался, но был выше, чем в группах с нормальной массой тела. В группе БН уровень грелина был ниже чем в группе нБН ($p < 0.05$), в то время как в группах БП и нБП он был сопоставимым. Соотношение лептин/адипонектин в группе БН было выше, чем в группе нБН (7.05 ± 0.84 против 2.97 ± 0.44 , $p < 0.05$), но ниже, чем в группах БП (13.80 ± 2.28) и нБП (11.28 ± 1.03). Соотношение лептин/грелин в группе БН было также выше, чем в группе нБН (18.46 ± 4.20 против 4.07 ± 0.68 , $p < 0.05$), но ниже, чем в группах БП (37.46 ± 21.59) и нБП (25.17 ± 3.97). Прогностическая значимость соотношения лептин/грелин составила 25.13 (CI 1.24–509.15, $p = 0.035$). Уровни адипонектина и соотношение адипонектин/грелин в исследуемых группах не различались. Таким образом, прогностическая значимость изменений уровней лептина и грелина и соотношений лептин/грелин и лептин/адипонектин в фолликулярной жидкости обусловлена массой тела пациенток и их метаболическим статусом. Концентрация лептина и отношение лептин/грелин в фолликулярной жидкости могут рассматриваться как ценные маркеры оценки успешности ЭКО у женщин с нормальной массой тела.

Ключевые слова: лептин, адипонектин, грелин, экстракорпоральное оплодотворение, фолликулярная жидкость, избыточная масса тела

DOI: 10.31857/S0869813920060102

Одним из подходов для повышения рождаемости у женщин со сниженной фертильностью является использование процедуры экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) – *in vitro* фертилизации [1]. Результативность процедуры ЭКО зависит от многих факторов, включая гормональный и метаболический статус организма женщины [2]. Имеются многочисленные свидетельства того, что адипокины, гормоноподобные вещества, вырабатываемые жировой тканью, играют исключительно важную роль в регуляции активности всех компонентов гипоталамо-гипофизарно-гонадной (ГГГ) оси и, тем самым, влияют на процессы фолликулогенеза, оогенеза и стероидогенеза [3–7].

В наибольшей степени изучено влияние на репродуктивные функции у женщин лептина и его функционального антагониста адипонектина. Лептин, синтезируемый адипоцитами белой жировой ткани, поступает из кровотока в мозг, преодолевая гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), где активирует продукцию гипоталамическими нейронами гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), усиливая, тем самым, выработку гонадотропинов и активируя ГГГ ось [8]. Наряду с этим, лептин, преодолевая гемато-овариальный барьер, непосредственно воздействует на фолликулярные клетки яичников, причем определенный вклад в стимуляцию лептиновых сигнальных путей в яичниках может вносить лептин, синтезируемый в овариальной ткани *in situ* [9]. В условиях гиперлептинемии и развивающейся вследствие этого лептиновой резистентности, характерных для ожирения и метаболического синдрома, начинает выявляться негативное влияние лептина на функции ГГГ оси. Это обусловлено нарушением поступления лептина через ГЭБ в мозг, результатом чего является дефицит лептина в ЦНС и ослабление его стимулирующего влияния на ГнРГ-экспрессирующие гипоталамические нейроны, а также значительное снижение чувствительности к лептину фолликулярных клеток яичников, что ослабляет их ответ на лептин [10]. Действие адипонектина на репродуктивную систему является во многом противоположным таковому лептина. Этот адипокин подавляет активность ГнРГ-экспрессирующих нейронов в гипоталамусе и при высоких концентрациях ингибирует процессы стероидогенеза и фолликулогенеза в яичниках [5]. В меньшей степени изучено влияние на ГГГ ось адипокина грелина, еще одного функционального антагониста лептина [11, 12]. Грелин через гипоталамические механизмы контролирует пищевое поведение и является мощным орексигенным фактором, усиливающим аппетит [13]. Поскольку функции адипокинов и механизмы их действия на ткани-мишени тесно связаны, имеются основания считать, что более информативным для изучения адипокинового статуса является оценка соотношений между концентрациями адипокинов в крови или в других биологических жидкостях, включая фолликулярную жидкость [14].

Имеются сведения, что концентрация адипокинов, в том числе лептина, в фолликулярной жидкости может существенно влиять на протекание фолликулогенеза и определять чувствительность фолликулярных клеток к гонадотропинам. При этом уровни адипокинов в фолликулярной жидкости не всегда коррелируют с их уровнями в крови. Это обусловлено тем, что уровни адипокинов в фолликулярной жидкости зависят от проницаемости для них гемато-овариального барьера, интенсивности биodeградации адипокинов и возможностью их синтеза в фолликулярных клетках *in situ*, как это показано для лептина и адипонектина [9, 15]. Основываясь на этом, мы предположили, что успешность проведения ЭКО может зависеть от уровня и соотношений адипокинов в фолликулярной жидкости. Целью исследования была проверка этого предположения, для чего изучали уровни лептина, адипонектина и грелина и их соотношения в фолликулярной жидкости женщин с нормальной и повышенной массой тела, проходящих лечение бесплодия с помощью ЭКО.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом НИИ акушерства, гинекологии и репродукции им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург (протокол № 77 от 12 мая 2016 г.). В исследовании принимали участие 45 женщин. Критериями включения являлись: (1) возраст 18–45 лет, и (2) трубно-перитонеальный или мужской фактор бесплодия. Критериями исключения являлись: (1) клинические признаки синдрома поликистозных яичников, (2) нарушения углеводного обмена, (3) концентрация антимюллерова гормона в крови ниже 1.0 нг/мл, (4) общие противопоказания к проведению процедуры ЭКО. В зависимости от индекса массы тела (ИМТ) женщины были разделены на 2 группы – с нормальной и повышенной массой тела. ИМТ рассчитывали по формуле $\text{ИМТ} = \text{вес (кг)} / [\text{рост (м)}]^2$. Нормальной массой тела считались значения ИМТ от 18.5 до 24.9 кг/м², в то время как повышенная масса тела определялась при значениях ИМТ > 25 кг/м². В зависимости от наступления беременности в каждой из двух сформированных групп, женщин делили на 2 подгруппы: забеременевшие после проведения ЭКО и те, у кого беременность после ЭКО отсутствовала.

ЭКО проводили с применением протокола с антагонистами ГнРГ. Для стимуляции созревания фолликулов применяли препараты рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (ФСГ): Гонал-Ф[®] (Merck Serono S.p.A., Италия), Пурегон[®] (Organon, Нидерланды), Фоллитроп[®] (LG Chem Ltd., Республика Корея), Перговерис[®] (Merck Serono S.A., Швейцария), и человеческий менопаузальный гонадотропин, выделенный из мочи постменопаузальных женщин: Менопур[®] (Ferring GmbH, Германия) и Хумог[®] (Bharat Serums & Vaccines Ltd., Индия). При достижении как минимум двумя фолликулами размера 18 мм осуществляли стимуляцию овуляции с помощью рекомбинантного хорионического гонадотропина человека (ХГЧ): Прегнил[®] (Organon, Нидерланды), Овитрель[®] (Merck Serono S.p.A., Италия). Через 34–36 ч после введения ХГЧ выполняли трансвагинальную пункцию фолликулов с забором яйцеклеток. Фолликулярную жидкость из первого пунктированного фолликула собирали в отдельную емкость для последующего исследования с помощью ИФА. Через 4–5 дней в матку переносили не более двух эмбрионов. Через 14–15 дней после переноса эмбрионов исследовали содержание β-субъединицы ХГЧ в сыворотке крови пациенток. При положительном результате проводили УЗИ для визуализации в полости матки плодного яйца, при обнаружении которого женщины относили к группе забеременевших пациенток в результате проведения ЭКО. Концентрацию лептина в образцах фолликулярной жидкости определяли с помощью набора DRG Leptin ELISA (DRG, США), концентрацию адипонектина – с помощью набора AssayMax Human Adiponectin ELISA (AssayPro, США), уровня грелина – с помощью набора Human Ghrelin ELISA (SCETI, Япония).

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программ для статистического анализа SPSS Statistics. Данные во всех исследуемых группах проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова–Смирнова (во всех случаях $p > 0.05$). Для обнаружения достоверных различий между группами был применен дисперсионный анализ. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из 45 женщин, принимавших участие в исследовании, после проведения ЭКО клиническая беременность наступала у 12 пациенток (27%). Формировали следующие 4 группы: женщины с нормальной массой тела – забеременевшие (БН, $n = 7$) и с

Таблица 1. Показатели возраста, ИМТ, уровней адипокинов в фолликулярной жидкости и их соотношения у женщин с нормальной и повышенной массой тела, забеременевших в результате процедуры ЭКО или с отсутствием беременности

Table 1. The age, BMI, adipokines levels in the follicular fluid and their ratios in women with the normal and increased body weight who became pregnant as a result of IVF or with no pregnancy

Показатель Indicator	Нормальная масса тела Normal body weight		Повышенная масса тела Increased body weight	
	нБН (<i>n</i> = 14) nPN (<i>n</i> = 14)	БН (<i>n</i> = 7) PN (<i>n</i> = 7)	нБП (<i>n</i> = 19) nPI (<i>n</i> = 19)	БП (<i>n</i> = 5) PI (<i>n</i> = 5)
Возраст, лет Age, years	31.9 ± 0.9	32.1 ± 2.1	34.3 ± 1.2	31.8 ± 1.8
Индекс массы тела, кг/м ² Body mass index, kg/m ²	21.3 ± 0.4	23.0 ± 0.4	29.9 ± 0.9	30.6 ± 1.0
Лептин, нг/мл Leptin, ng/mL	10.48 ± 1.33 ^{a,b}	21.54 ± 3.34 ^{a,c}	32.13 ± 2.73 ^b	39.72 ± 6.29 ^c
Грелин, нг/мл Ghrelin, ng/mL	3.80 ± 0.89 ^{a,b}	1.36 ± 0.2 ^a	1.92 ± 0.38 ^b	2.18 ± 0.54
Адипонектин, мкг/мл Adiponectin, µg/mL	3.70 ± 0.14 ^b	3.17 ± 0.40	2.98 ± 0.10 ^b	2.92 ± 0.23
Лептин/адипонектин Leptin/Adiponectin	2.97 ± 0.44 ^{a,b}	7.05 ± 0.84 ^{a,c}	11.28 ± 1.03 ^b	13.80 ± 2.28 ^c
Лептин/грелин Leptin/Ghrelin	4.07 ± 0.68 ^{a,b}	18.46 ± 4.20 ^a	25.17 ± 3.97 ^b	37.46 ± 21.59
Адипонектин/грелин Adiponectin/Ghrelin	1.69 ± 0.32	2.68 ± 0.54	2.40 ± 0.37	2.19 ± 0.90

Примечание. ^a — различия между группами нБН и БН статистически значимы при $p < 0.05$; ^b — различия между группами нБН и нБП статистически значимы при $p < 0.05$; ^c — различия между группами БН и БП статистически значимы при $p < 0.05$.

^a — the differences between the nPN and PN groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^b — the differences between the nPN and nPI groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^c — the differences between the PN and PI groups are statistically significant at $p < 0.05$

отсутствием беременности после ЭКО (нБН, $n = 14$), женщины с повышенной массой тела — забеременевшие (БП, $n = 5$) и с отсутствием беременности после ЭКО (нБП, $n = 19$). Все исследуемые группы были однородны по возрасту. В свою очередь, группы БН и нБН и группы БП и нБП были попарно однородны по значениям ИМТ.

Изучение уровня лептина в фолликулярной жидкости у пациенток с нормальной массой тела показало, что в группе БН он был достоверно выше, чем в группе нБН ($p = 0.0015$) (табл. 1). У пациенток с повышенной массой тела, как забеременевших, так и с отсутствием беременности после ЭКО, уровень лептина в фолликулярной жидкости был достоверно выше, чем в группе БН. При этом достоверных различий между группами БП и нБП выявлено не было (табл. 1). Уровни адипонектина в фолликулярной жидкости у исследуемых групп пациенток с разным исходом ЭКО статистически значимо не различались (табл. 1). При изучении уровня грелина отмечали его снижение в группе БН в сравнении с группой нБН. В группах пациенток с повышенной массой тела различий между пациентками с беременностью и ее отсутствием после ЭКО выявлено не было (табл. 1).

Поскольку регуляторные влияния лептина и его функциональных антагонистов, адипонектина и грелина, тесно взаимосвязаны, высокой информативностью характеризуется показатель соотношения их концентраций в биологических жидкостях. Нами показано, что соотношение концентраций лептина к адипонектину в фолликулярной жидкости в значительной степени повышено в обеих группах пациенток с повышенной массой тела — БП и нБП, в то время как в группах пациенток с нормальной массой тела оно выше у забеременевших женщин ($p < 0.001$) (табл. 1). У па-

Таблица 2. Показатели прогностической значимости концентраций лептина и соотношений лептин/грелин и лептин/адипонектин в фолликулярной жидкости**Table 2.** The prognostic significance of the leptin concentrations and the ratios of leptin/ghrelin and leptin/adiponectin in the follicular fluid

Показатель Indicator	Значение, при котором наступление беременности становится маловероятным The value at which pregnancy becomes unlikely	Чувствительность, % Sensitivity, %	Специфичность, % Specificity, %
Лептин, нг/мл Leptin, ng/mL	<15	86	86
Лептин/грелин Leptin/Ghrelin	<9	86	100
Лептин/адипонектин Leptin/Adiponectin	<5	86	86

циенток с повышенной массой тела соотношение концентраций лептина к грелину было выше, чем у пациенток с нормальной массой тела. При этом в группе БН оно было выше, чем в группе нБН. У пациенток с повышенной массой тела прослеживалась сходная закономерность, но различия между группами БП и нБП в этом случае не были статистически значимыми (табл. 1). Соотношение адипонектин/грелин между исследуемыми группами достоверно не различалось (табл. 1).

Далее определяли пороговые значения, ниже которых наступление беременности становится маловероятным. В качестве пороговых значений были выбраны значения с наилучшими показателями чувствительности и специфичности, которые рассчитывали по стандартной методике [16]. Чувствительность рассчитывали по формуле $S_n = TP / (TP + FN)$, где S_n – чувствительность, TP – число истинно положительных результатов, FN – число ложноотрицательных результатов. Специфичность рассчитывали по формуле $S_p = TN / (TN + FP)$, где S_p – специфичность, TN – число истинно отрицательных результатов, FP – число ложноположительных результатов. Согласно проведенным расчетам (табл. 2), наиболее чувствительным показателем является соотношение лептин/грелин. Для оценки его прогностической значимости было рассчитано отношение шансов (Odds ratio), которое составило 25.13 (CI 1.24–509.15, $p = 0.035$). Полученное значение свидетельствует о том, что соотношение лептин/грелин в значительной степени определяет эффективность и исход программ ЭКО.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Имеется ряд работ по изучению возможных взаимосвязей между уровнем лептина в фолликулярной жидкости и результативностью процедур ЭКО, но полученные результаты противоречивы [17–19]. Основным источником циркулирующего в крови лептина является жировая ткань, хотя он в небольшой степени экспрессируется и в яичниках [20]. Основной пул лептина, который содержится в фолликулярной жидкости, формируется за счет лептина, который переносится в яичники через гемато-овариальный барьер с помощью рецептор-зависимого эндоцитоза, причем этот барьер более проницаем для адипокинов в сравнении с ГЭБ [21]. Регуляторное влияние лептина на функции яичников и фолликулогенез является разнонаправленным. В концентрациях, близких к физиологическим (3.7–11.1 нг/мл), лептин стимулирует фолликулогенез, усиливает продукцию прогестерона и активирует фермент ароматазу, повышая, тем самым, продукцию эстрадиола [22–26]. В высоких концентрациях, характерных для ожирения и метаболического синдрома, лептин, напро-

тив, снижает базальную и стимулированную инсулиноподобным фактором роста-1 продукцию эстрадиола и прогестерона, подавляет стимулированный гонадотропинами стероидогенез, ингибирует стимулированную ХГЧ овуляцию [27–29].

Полученные нами данные отчетливо демонстрируют разнонаправленные эффекты различных концентраций лептина на функции яичников у женщин репродуктивного возраста. В группах пациенток с нормальной массой тела уровень лептина в фолликулярной жидкости у пациенток с отсутствием беременности после ЭКО был ниже, чем у забеременевших. Это может быть обусловлено тем, что для нормальной регуляции функций яичников концентрация лептина должна поддерживаться на определенном базальном уровне, что обеспечивает полноценную активацию лептиновой сигнальной системы в фолликулярных клетках. Значительное снижение уровня лептина приводит к ослаблению гормональной стимуляции этой системы и, как следствие, к нарушению процессов фолликулогенеза и овуляции, на что указывает снижение эффективности ЭКО у пациенток с нормальной массой тела и сниженным уровнем лептина в фолликулярной жидкости. Исследования с мышами, нокаутными по гену лептина, также демонстрируют сильно выраженные нарушения фолликулогенеза и овуляции, причем попытка их коррекции с помощью гонадотропинов не приводит к нормализации функции яичников [30]. Все вышесказанное свидетельствует о том, что у пациенток с нормальной массой тела и низким уровнем лептина проведение повторных процедур ЭКО без нормализации уровня этого адипокина не представляется целесообразным.

Нами показано, что у пациенток с повышенной массой тела уровень лептина в фолликулярной жидкости выше, чем у пациенток с нормальной массой тела, что согласуется с данными других авторов [31]. При этом различий в содержании лептина в фолликулярной жидкости у забеременевших женщин и пациенток с отсутствием беременности выявлено не было. Это может объясняться тем, что в условиях гиперлептинемии, вызванной увеличением массы жировой ткани, снижается чувствительность фолликулярных клеток к лептину и овариальная лептиновая система не вносит решающего вклада в контроль процессов фолликулогенеза и овуляции. Причинами лептиновой резистентности в яичниках могут быть как снижение экспрессии лептиновых рецепторов и нарушение их транслокации в плазматическую мембрану, так и усиление активности негативных регуляторов лептиновых сигнальных путей, в первую очередь протеинфосфотириозинфосфатазы 1В и ингибитора цитокинового сигналинга SOCS3 [10, 32, 33]. В случае гиперлептинемии оценка уровня лептина в фолликулярной жидкости для прогнозирования исхода процедуры ЭКО теряет свою значимость.

Адипонектин и грелин, функциональные антагонисты лептина, также участвуют в регуляции репродуктивных функций у женщин. Так адипонектин подавляет стероидогенез в яичниках и секрецию ГнРГ гипоталамусом, хотя при этом и увеличивает секрецию гонадотропинов гонадотрофами гипофиза [34]. Регуляторные эффекты адипонектина на яичники в значительной степени зависят от метаболического статуса организма, от концентрации и паттерна изоформ адипонектина, а также от соотношения адипонектиновых рецепторов 1-го и 2-го типов, которые существенно различаются по активности и характеризуются даже некоторым антагонизмом по отношению друг к другу [5]. Нами не было обнаружено существенных изменений в содержании адипонектина в фолликулярной жидкости исследуемых групп женщин, что указывает на отсутствие взаимосвязи между концентрацией этого адипокина в фолликулярной жидкости и исходами ЭКО. При этом было отмечено значительное повышение соотношения концентраций лептина и адипонектина в группе забеременевших после ЭКО женщин с нормальной массой тела по сравнению с пациентками, у кого беременность после ЭКО отсутствовала. Это может указывать на возможность использования такого показателя, как соотношение лептин/адипонектин в качестве маркера для прогнозирования результативности ЭКО.

Для женщин с нормальной массой тела нами показано не только снижение уровня грелина в фолликулярной жидкости забеременевших пациенток в сравнении с теми, у кого беременность отсутствовала, но и значительное повышение соотношения лептин/грелин. Следует отметить, что повышенное содержание грелина является одной из причин развития лептиновой резистентности, в основе чего лежит повышение активности негативных регуляторов лептиновых сигнальных путей, в том числе SOCS3 [35]. Важно отметить, что у женщин с повышенной массой тела отношение лептин/грелин вследствие сильно выраженной гиперлептинемии было повышено, а различия между забеременевшими женщинами и пациентками с отсутствием беременности не были статистически значимыми. Таким образом, у пациенток с нормальной, но не повышенной, массой тела соотношение лептин/грелин, наряду с уровнем лептина, может рассматриваться как важный прогностический показатель для исхода ЭКО. Это иллюстрируют рассчитанные нами пороговые значения для лептина (<15) и соотношения лептин/грелин (<9), ассоциированные с неудачными попытками ЭКО. При этом соотношение лептин/грелин является наиболее чувствительным и специфичным.

Полученные нами результаты указывают на то, что нормализация лептиновых сигнальных путей в яичниках может быть одним из эффективных путей для повышения результативности ЭКО. Усиление лептиновой сигнализации в яичниках в условиях лептиновой резистентности может быть достигнуто путем подавления активности негативных регуляторов сигнальных путей лептина, в первую очередь протеинфосфотирозинфосфатазы 1В. Так ингибитор этого фермента Тродусквемин, повышает чувствительность клеток-мишеней к лептину, снижает аппетит и массу тела при ожирении и метаболическом синдроме, стимулирует зависимые от лептина физиологические процессы [36]. При этом применение фармакологических препаратов лептина и его аналогов, эффективных в условиях острого системного дефицита лептина в организме, при нормолептинемии и гиперлептинемии может привести только к усилению лептиновой резистентности и в еще большей степени усугубить дисфункции репродуктивной системы [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами проведено системное изучение взаимосвязей между исходами ЭКО и уровнями и соотношением наиболее важных для контроля репродуктивных функций адипокинов в фолликулярной жидкости женщин с нормальной и повышенной массой тела. Впервые установлено, что прогностическая значимость изменений уровней лептина, грелина и соотношений лептин/грелин и лептин/адипонектин в фолликулярной жидкости в значительной степени определяется массой тела пациентки и ее гормональным и метаболическим статусом. Установлено, что концентрация лептина в фолликулярной жидкости и соотношение лептин/грелин могут стать новыми маркерами для оценки успешности ЭКО и, в ряде случаев, могут использоваться как критерии для принятия решения о целесообразности использования вспомогательных репродуктивных технологий.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа поддержана госзаданием АААА-А18-118012290427-7.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом НИИ акушерства, гинекологии и репродукции им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург (протокол № 77 от 12 мая 2016 г.).

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коган И.Ю., Гзгзян А.М., Лесик Е.А. Протоколы стимуляции в циклах ЭКО, 2-е издание. М.: “ГЕОТАР-Медиа”. 2017. 128 с. eLIBRARY ID: 36374989. [Kogan I. Yu., Gzgzyan A. M., Lesik E. A. Stimulation Protocols in the IVF Cycles, 2nd Edition. M.: “GEOTAR-Media”. 2017. 128 pp. eLIBRARY ID: 36374989. (In Russ)].
2. Шпаков А.О. Гонадотропины – от теории к клинической практике. Санкт-Петербург: ПОЛИТЕХ-ПРЕСС. 2018. 347 с. eLIBRARY ID: 3642381. [Shpakov A. O. Gonadotropins – from theory to clinical practice. St. Petersburg: Polytech-Press. 2018. 347 p. eLIBRARY ID: 3642381. (In Russ)].
3. Reverchon M., Ramé C., Bertoldo M., Dupont J. Adipokines and the female reproductive tract. *Int. J. Endocrinol.* 2014: 232454. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/232454>
4. Бахтыуков А.А., Шпаков А.О. Молекулярные механизмы действия лептина на гипоталамо-гипофизарно-гонадную ось. *Цитология.* 60(10): 755–767. 2018. [Bakhtuykov A. A., Shpakov A. O. Molecular mechanisms of the action of leptin on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Tsitologiya.* 60(10): 755–767. 2018. (In Russ)]. <https://doi.org/10.7868/S0041377118100016>
5. Рыжов Ю.Р., Шпаков А.О. Адипонектин, как эндогенный регулятор гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. *Трансляционная медицина.* 5(5): 26–36. 2018. [Ryzhov Yu. R., Shpakov A. O. Adiponectin as an endogenous regulator of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Translational medicine.* 5(5): 26–36. 2018. (In Russ)].
6. Mathew H., Castracane V.D., Mantzoros C. Adipose tissue and reproductive health. *Metabolism.* 86: 18–32. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.11.006>
7. Shpakov A. O., Ryzhov Ju. R., Bakhtuykov A. A., Derkach K. V. The regulation of the male hypothalamic-pituitary-gonadal axis and testosterone production by adipokines (Chapter 2). In: *Advances in Testosterone Action* (Ed. by M. Estrada). Intech Open Access Publisher, Rijeka, Croatia. 25–57. 2018. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76321>.
8. Ratra D.V., Elias C.F. Chemical identity of hypothalamic neurons engaged by leptin in reproductive control. *J Chem. Neuroanat.* 61–62: 233–238. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2014.05.005>
9. Löffler S., Aust G., Köhler U., Spanel-Borowski K. Evidence of leptin expression in normal and polycystic human ovaries. *Mol. Hum. Reprod.* 7(12): 1143–1149. 2001. <https://doi.org/10.1093/molehr/7.12.1143>
10. Liu J., Yang X., Yu S., Zheng R. The leptin resistance. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1090: 145–163. 2018. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1286-1_8
11. Celik O., Celik N., Aydin S., Aygun B. K., Haberal E. T., Kuloglu T., Ulas M., Aktun L. H., Acet M., Celik S. Ghrelin action on GnRH neurons and pituitary gonadotropes might be mediated by GnIH-GPR147 system. *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* 25(2): 121–128. 2016. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2015-0050>
12. Rak-Mardyta A., Wróbel A., Gregoraszczyk E. L. Ghrelin negatively affects the function of ovarian follicles in mature pigs by direct action on basal and gonadotropin-stimulated steroidogenesis. *Reprod. Sci.* 22(4): 469–475. 2015. <https://doi.org/10.1177/1933719114549854>
13. Al Massadi O., López M., Tschöp M., Diéguez C., Nogueiras R. Current understanding of the hypothalamic ghrelin pathways inducing appetite and adiposity. *Trends Neurosci.* 40(3): 167–180. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.12.003>
14. Frühbeck G., Catalán V., Rodríguez A., Ramírez B., Becerril S., Salvador J., Colina I., Gómez-Ambrosi J. Adiponectin-leptin ratio is a functional biomarker of adipose tissue inflammation. *Nutrients.* 11(2). pii: E454. 2019. <https://doi.org/10.3390/nu11020454>
15. Artimani T., Saidijam M., Aflatoonian R., Ashrafi M., Amiri I., Yavangi M., Soleimani Asl S., Shabab N., Karimi J., Mehdizadeh M. Down-regulation of adiponectin system in granulosa cells and low levels of HMW adiponectin in PCOS. *J. Assist. Reprod. Genet.* 33(1): 101–110. 2016. <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0620-1>
16. Akobeng A.K. Understanding diagnostic tests 1: sensitivity, specificity and predictive values. *Acta Paediatr.* 96(3): 338–341. 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2006.00180.x>
17. Anifandis G., Koutselini E., Stefanidis I., Liakopoulos V., Leivaditis C., Mantzavinos T., Vamvakopoulos N. Serum and follicular fluid leptin levels are correlated with human embryo quality. *Reproduction.* 130(6): 917–921. 2005. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00705>
18. Takikawa S., Iwase A., Goto M., Harata T., Umezū T., Nakahara T., Kobayashi H., Suzuki K., Manabe S., Kikkawa F. Assessment of the predictive value of follicular fluid insulin, leptin and adiponectin in assisted reproductive cycles. *Gynecol. Endocrinol.* 26(7): 494–499. 2010. <https://doi.org/10.3109/09513591003632050>

19. Akarsu S., Buke B., Göde F., Dirican K.E., Başbuğ A., Ceyhan S.T., Goktolga U., Akın O., Korkmaz C., Kara C., Zeki Isık A. Association of serum and follicular fluid leptin and ghrelin levels with in vitro fertilization success. *Ginekol. Pol.* 88(9): 469–474. 2017.
<https://doi.org/10.5603/gp.a2017.0086>
20. Zendron C., Gonçalves H.F., Cavalcante F.S., Pereira T.R., Evangelista A., Ramos C.F., Oliveira M.A. Increased expression of the leptin receptor in human ovaries affected by endometrioma and detection of high levels of leptin in the ovarian endometriomal fluid. *J. Ovarian. Res.* 7: 2. 2014.
<https://doi.org/10.1186/1757-2215-7-2>
21. Banks W.A., McLay R.N., Kastin A.J., Sarmiento U., Scully S. Passage of leptin across the blood-testis barrier. *Am. J. Physiol.* 276(6): 1099–1104. 1999.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.1999.276.6.e1099>
22. Kitawaki J., Kusuki I., Koshiba H., Tsukamoto K., Honjo H. Leptin directly stimulates aromatase activity in human luteinized granulosa cells. *Mol. Hum. Reprod.* 5(8): 708–713. 1999.
<https://doi.org/10.1093/molehr/5.8.708>
23. Lin Q., Poon S.L., Chen J., Cheng L., HoYuen B., Leung P.C. Leptin interferes with 3',5'-cyclic adenosine monophosphate (cAMP) signaling to inhibit steroidogenesis in human granulosa cells. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7: 115. 2009.
<https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-115>
24. Karamouti M., Kollia P., Kallitsaris A., Vamvakopoulos N., Kollios G., Messinis I.E. Modulating effect of leptin on basal and follicle stimulating hormone stimulated steroidogenesis in cultured human lutein granulosa cells. *J. Endocrinol. Invest.* 32(5): 415–419. 2009.
<https://doi.org/10.1007/BF03346478>
25. Bilbao M.G., Di Yorio M.P., Faletti A.G. Different levels of leptin regulate different target enzymes involved in progesterone synthesis. *Fertil. Steril.* 99(5): 1460–1466. 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.12.014>
26. Di Yorio M.P., Bilbao M.G., Biagini-Majorel A.M., Faletti A.G. Ovarian signalling pathways regulated by leptin during the ovulatory process. *Reproduction.* 146(6): 647–658. 2013.
<https://doi.org/10.1530/REP-13-0257>
27. Karlsson C., Lindell K., Svensson E., Bergh C., Lind P., Billig H., Carlsson L.M., Carlsson B. Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82(12): 4144–4148. 1997.
<https://doi.org/10.1210/jcem.82.12.4446>
28. Agarwal S.K., Vogel K., Weitsman S.R., Magoffin D.A. Leptin antagonizes the insulin-like growth factor-I augmentation of steroidogenesis in granulosa and theca cells of the human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84(3): 1072–1076. 1999.
<https://doi.org/10.1210/jcem.84.3.5543>
29. Brannian J.D., Zhao Y., McElroy M. Leptin inhibits gonadotrophin-stimulated granulosa cell progesterone production by antagonizing insulin action. *Hum. Reprod.* 14(6): 1445–1458. 1999.
<https://doi.org/10.1093/humrep/14.6.1445>
30. Olatinwo M.O., Bhat G.K., Stah C.D., Mann D.R. Impact of gonadotropin administration on folliculogenesis in prepubertal *ob/ob* mice. *Mol. Cell. Endocrinol.* 245(1–2): 121–127. 2005.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2005.11.003>
31. Di Carlo C., Tommaselli G.A., Nappi C. Effects of sex steroid hormones and menopause on serum leptin concentrations. *Gynecol. Endocrinol.* 16(6): 479–491. 2002.
<https://doi.org/10.1080/gye.16.6.479.491>
32. Kaszubska W., Falls H.D., Schaefer V.G., Haasch D., Frost L., Hessler P., Kroeger P.E., White D.W., Jirousek M.R., Trevillyan J.M. Protein tyrosine phosphatase 1B negatively regulates leptin signaling in a hypothalamic cell line. *Mol. Cell. Endocrinol.* 195(1–2): 109–118. 2002.
[https://doi.org/10.1016/s0303-7207\(02\)00178-8](https://doi.org/10.1016/s0303-7207(02)00178-8)
33. Bjorbaek C., El-Haschimi K., Frantz J.D., Flier J.S. The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. *J. Biol. Chem.* 274(42): 30059–30065. 1999.
<https://doi.org/10.1074/jbc.274.42.30059>
34. Sominsky L., Hodgson D.M., McLaughlin E.A., Smith R., Wall H.M., Spencer S.J. Linking stress and infertility: a novel role for ghrelin. *Endocr. Rev.* 38(5): 432–467. 2017.
<https://doi.org/10.1210/er.2016-1133>
35. Heldsinger A., Grabauskas G., Wu X., Zhou S., Lu Y., Song I., Owyang C. Ghrelin induces leptin resistance by activation of suppressor of cytokine signaling 3 expression in male rats: implications in satiety regulation endocrinology. *Endocrinology.* 155(10): 3956–3969. 2014.
<https://doi.org/10.1210/en.2013-2095>
36. Lantz K.A., Hart S.G., Planey S.L., Roitman M.F., Ruiz-White I.A., Wolfe H.R., McLane M.P. Inhibition of PTP1B by trodusquemine (MSI-1436) causes fat-specific weight loss in diet-induced obese mice. *Obesity (Silver Spring).* 18(8): 1516–1523. 2010.
<https://doi.org/10.1038/oby.2009.444>

The Interrelation between the Adipokines Levels and Their Ratio in the Follicular Fluid and the Efficiency of *In Vitro* Fertilization in Women with the Normal and Increased Body Weight

**J. R. Ryzhov^{a, b, *}, A. O. Shpakov^b, N. N. Tkachenko^a, M. R. Mahmalieva^a,
I. Yu. Kogan^a, and A. M. Gzgzan^a**

^a*Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproduction,
St. Petersburg, Russia*

^b*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences,
St. Petersburg, Russia*

**e-mail: julian.ryzhov@gmail.com*

Adipokines produced by adipose tissue are involved in the regulation of steroidogenesis and folliculogenesis and affect embryo implantation and endometrial receptivity. As a result, the adipokine levels and their ratio in the follicular fluid can be used to evaluate the effectiveness of the *in vitro* fertilization (IVF). The aim was to study the effect of the leptin, adiponectin and ghrelin levels and their ratios in the follicular fluid of women with the normal and increased body weight on the effectiveness and outcome of IVF. We studied women with normal body weight who became pregnant (PN, $n = 7$) or who did not become pregnant (nPN, $n = 14$) as a result of IVF, and overweight women ($BMI > 25 \text{ kg/m}^2$), who became pregnant (PO, $n = 5$) and not pregnant (nPO, $n = 19$) after IVF. In the PN group, the level of leptin in the follicular fluid was higher than in the nPN group ($p < 0.05$). In the PO and nPO groups, it did not differ, but was higher than in the groups with normal body weight. In the PN group, the ghrelin level was lower than in the nPN group ($p < 0.05$), while in the PO and nPO groups it was comparable. The leptin/adiponectin ratio in the PN group was higher than in the nPN group (7.05 ± 0.84 versus 2.97 ± 0.44 , $p < 0.05$), but lower than in the PO (13.80 ± 2.28) and nPO (11.28 ± 1.03) groups. The leptin/ghrelin ratio in the PN group was also higher than in the nPN group (18.46 ± 4.20 vs. 4.07 ± 0.68 , $p < 0.05$), but lower than in the PO (37.46 ± 21.59) and nPO (25.17 ± 3.97) groups. The prognostic significance of the leptin/ghrelin ratio was 25.13 (CI 1.24–509.15, $p = 0.035$). The adiponectin levels and the adiponectin/ghrelin ratio in the investigated groups did not differ. Thus, the prognostic significance of the leptin and ghrelin levels and the leptin/ghrelin and leptin/adiponectin ratios in the follicular fluid is due to the patient's body weight and metabolic status. The concentration of leptin and the ratio of leptin/ghrelin in the follicular fluid can be considered as valuable markers for assessing the success of IVF in women with normal body weight.

Keywords: leptin, adiponectin, ghrelin, *in vitro* fertilization, follicular fluid, overweight

ЦИТИРОВАТЬ:

Рыжов Ю.Р., Шпаков А.О., Ткаченко Н.Н., Махмадалиева М.Р., Коган И.Ю., Гзгзян А.М. Взаимосвязь между уровнями адипокинов, их соотношением в фолликулярной жидкости и результативностью экстракорпорального оплодотворения у женщин с нормальной и повышенной массой тела. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 106(6): 783–792.

DOI: 10.31857/S0869813920060102

TO CITE THIS ARTICLE:

Ryzhov J.R., Shpakov A.O., Tkachenko N.N., Mahmalieva M.R., Kogan I.Yu., Gzgzan A.M. The Interrelation between the Adipokines Levels and Their Ratio in the Follicular Fluid and the Efficiency of *In Vitro* Fertilization in Women with the Normal and Increased Body Weight. Russian Journal of Physiology. 106(6): 783–792.

DOI: 10.31857/S0869813920060102